

学 位 論 文

無血清培養系を用いた扁平上皮癌細胞の放射線耐性
獲得機構の細胞内分泌学的解明とその機能解析

内迫 香織

広島大学大学院医歯薬保健学研究科
博士課程 医歯薬学専攻 歯学専門プログラム

2018 年度

主指導教員：岡本 哲治 教授
(医歯薬保健学研究科 分子口腔医学・顎顔面外科学)

第 1 章 緒論

第 2 章 実験材料および方法

第 1 節 細胞培養法

- 1) 細胞培養液
- 2) 細胞株と培養方法

第 2 節 放射線耐性株及び単回照射細胞の IGF2 及び PD-L1 発現検討

- 1) 各細胞からの total RNA の抽出
- 2) Quantitative-PCR による insulin-like growth factor (IGF) 2
及び PD-L1 の mRNA 発現の検討
- 3) 各細胞からの蛋白抽出
- 4) Western blot 法による IGF2 及び PD-L1 蛋白の発現検討

第 3 節 放射線耐性細胞株における Ras/MAP シグナルの検討

- 1) Bio-Plex を用いた ERK、p38、及び CREB のリン酸化レベルの検討
- 2) Western blot 法による ERK、p38、及び CREB のリン酸化の検討

第 4 節 Lymphokine-activated killer (LAK) 細胞の放射線耐性細胞に対する

細胞障害活性の検討

- 1) Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) の分離及び LAK 細胞の誘導
- 2) [51 Cr] を用いた細胞障害活性試験

第5節 Insulin-like growth factor2(IGF2)の WT-及び LDR-A431 の増殖に及ぼす影響

- 1) WT-及び LDR-A431 の増殖に及ぼす IGF2 の影響
- 2) WT-A431 細胞の IGF2 及び PD-L1 mRNA 発現に及ぼす IGF2 の検討
- 3) WT-及び LDR-A431 における PD-L1 発現の Fluorescence-activated cell sorting (FACS) を用いた発現検討

第6節 野生株及び放射線耐性株由来 exosome の野生株に及ぼす影響

- 1) 各細胞由来培養上清からの exosome の精製及びその解析
- 2) 精製exosomeの質評価
- 3) 各 exosome の細胞増殖に及ぼす影響
- 4) Colony survival assay
- 5) 各 exosome の WT-A431 細胞における IGF2 及び PD-L1 遺伝子の発現に及ぼす影響

第3章 結果

第4章 考察

第5章 総括

